Aus dem
Königl. Histologisch-embryologischen Institut München.
Direktor: Professor Mollier.

Blutbildung in der embryonalen Hühnerleber.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

IN DER

INNEREN MEDIZIN, GEBURTSHILFE UND CHIRURGIE

VERFASST UND EINER

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER

KÖNIGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

VORGELEGT VON

ROBERT HAFF
AUS PFRONTEN.

R. TRENKEL, BERLIN

1911

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.

Referent: Herr Professor Dr. Mollier.

Blutbildung in der embryonalen Hühnerleber.

Zur Untersuchung kamen Embryonen des Hühnchens vom dritten Bebrütungstag an bis zum Abschluß der embryonalen Epoche. Als Fixierungsflüssigkeiten benutzte ich Zenkersche Lösung, Zenker-Formol in der von Helly angegebenen Modifikation, Formalin-Müller-Lösung nach Orth, 96prozentigen Alkohol (Fixierungsdauer bis zu sechs Stunden, öfteres Wechseln der Flüssigkeit), Carnoy, Chrom-Essig-Osmiumsäuremischung von Flemming. Die Fixierungsdauer richtete sich nach dem Alter und der Größe des Objektes. Als Einbettungsmittel verwendete ich ausschließlich Paraffin. Diese verschiedenen Fixierungsmethoden kamen für Embryonen der gleichen Bebrütungsdauer in Anwendung, um dadurch die Möglichkeit einer einseitigen Darstellung der Gewebselemente auszuschließen. Maximow (18) betrachtet Zenker-Formol als vorzügliches Fixierungsmittel aller embryonalen Gewebe und vornehmlich des Hämoglobins und hat es auch in seinen verschiedenen Arbeiten fast ausschließlich angewandt. Ich habe bei meinen Präparaten beobachtet, daß dieses Zenker-Formol das Protoplasma aller Zellen, besonders der Blutstammzellen und ihrer Differenzierungsprodukte durchschnittlich gut und gleichmäßig fixiert. Für die Darstellung des Kerns hat es sich aber nicht immer als ganz einwandfrei erwiesen. Zum Vergleich kamen deshalb auch indifferentere Fällungsmittel in Anwendung, um so eventuelle Irrtümer auszuschalten.

Färbungsmittel: Giemsalösung (Grübler Inhaber Dr. Holborn Leipzig) — zwei Tropfen auf 1 ccm destilliertes Wasser, Färbungsdauer 20—40 Minuten und auch länger. Eine dauer-

haftere, doch ebenso schöne Färbungsmethode ist die mit Eosin-Azur II nach Grübler, nähere Angaben siehe Maximow (18). Die Differenzierung erfolgt in 96prozentigem Alkohol, bis keine Farbwolken mehr abgehen, dann kurz in absolutem Alkohol und darauf durch drei Portionen reinsten Alkohols in Toluol. Des weiteren verwandte ich die Eosin-Orange-Toluidinblaufärbung nach Dominici und die Mallorysche Bindegewebsfärbung.

Ich gebe in meiner Arbeit die für eine bestimmte Bebrütungsdauer gefundenen Organfunktionen an, muß aber von vornherein auf die großen Unterschiede in der Entwicklung des Embryo hinweisen, die durch die Art der Bebrütung gegeben sind. Ungleiche Resultate werden erzielt in den verschiedenen Jahreszeiten, bei Änderungen der Temperatur des Brutschrankes, bei mangelhafter oder fehlender zeitweiser Abkühlung der Eier usw. Von der Henne bebrütete Eier lieferten weiterentwickelte Objekte. Für jedes einzelne Stadium kamen deshalb vier bis fünf Embryonen verschiedener Serien, auch von verschiedenen Jahreszeiten zur Untersuchung und nur so gelang es mir, einwandfreie Angaben über die Dauer der blutbildenden Prozesse zu geben.

Die Literatur gibt uns nur geringe Anhaltspunkte über spezifisch blutbildende Fähigkeiten der embryonalen Vogelleber, resp. deren Endothelien oder Bindegewebe, wie wir dies z. B. bei den Säugetieren konstatiert finden. Ein Autor, van der Stricht (27), bringt einige bemerkenswerte Angaben über hämatopoetische Prozesse in der Hühnerleber. Er schreibt derselben von einem bestimmten Zeitpunkt der Bebrütung an blutreifende Funktionen zu. Stadien vom dritten, vierten und fünften Bebrütungstage bieten daraufhin betrachtet, wenig Interesse. Das Leberblut verhält sich in seiner Zusammensetzung wie das anderer Organe. Vom fünften bis sechsten Tag an vermindert sich aber die Zahl der Erythroblasten in dem in Umlauf befindlichen Blut und vermehrt sich dementsprechend in der Leber. Die Leberkapillaren dehnen sich aus, die Zahl der jungen Blutkörperchen wird beträchtlicher. Man findet große Gefäße, vergleichbar den zu- und abführenden Blutwegen und Kapillaren, die enger sind. Beide Arten von Gefäßen unterscheiden sich

sehr wesentlich. In ersteren befinden sich hauptsächlich fertige Blutelemente, Erythroblasten bis zu 30 %. In den Kapillaren sind vornehmlich an der Peripherie der Organe kleine Blutinselchen, die gebildet werden von etwa 10—15 Erythroblasten an Stelle von einem oder zwei entwickelten Blutkörperchen. Vermehrung dieser jungen Blutelemente durch indirekte Teilung. Van der Stricht findet, daß die Erythroblasten des strömenden Blutes an den Übergangsstellen der zuführenden in die abführenden Leberkapillaren anhalten und sich dort nach und nach durch indirekte Teilung in fertig entwickelte Blutkörperchen differenzieren. Diese Blutbildungsherde liegen dementsprechend intrakapillär, vom Leberparenchym durch eine einfache endotheliale Scheidewand getrennt. Aus dem Gefüge der Scheidewand kann kein Schluß auf die Art des Gefäßes gezogen werden, nur der Inhalt berechtigt zur Entscheidung, ob es sich um ein zuführendes oder abführendes handelt. Der die Kapillaren passierende Blutstrom reißt junge Blutkörperchen mit und so finden sich anscheinend in den ausführenden Gefäßen immer mehr Erythroblasten wie in den zuführenden. Die embryonale Hühnerleber hat also nach van der Stricht von einem gewissen Zeitpunkt ab blutreifende Funktion, geschlossene Gefäßwände und kein retikuläres Gewebe zwischen diesen und den Drüsenschläuchen. Der Prozeß dieser Blutreifung spielt sich innerhalb der Gefäße ab und gewinnt keine besondere Bedeutung. In den Arbeiten Bizzozeros finden wir diese untergeordneten Funktionen der Leber erwähnt. Um so zahlreicher und erschöpfender sind die Angaben über die Entwicklung des Blutes im Dottersack, im Bindegewebe und Knochenmark des Embryo. Besondere Beachtung verdienen mehrere Arbeiten neueren Datums von W. Dantschakoff (2, 3, 4 und 5), welche diese Kapitel bei vollkommener Berücksichtigung der vorhandenen Literatur und mit Zuhilfenahme moderner Untersuchungsmittel behandelt. Ich will kurz das Resümee dieser Forschungsergebnisse zusammenfassend berichten, daß die Blutbildung beim embryonalen Vogel von einer aus dem indifferenten Mesenchym entstandenen Mutterzelle als gemeinsamer Stammform für die verschiedenen Elemente des kreisenden Blutes übernommen

wird, daß aber Leukopoese und Erythropoese streng topographisch getrennt vor sich gehen, erstere extravaskulär, letztere aber intravaskulär. Ich werde im speziellen Teil eingehender auf diese Abhandlungen zurückkommen müssen, da in der embryonalen Vogelleber auch wieder nichts anderes als Bindegewebe und Endothelien die Grundlage für eine Hämatopoese bilden, allerdings unter andern Bedingungen wie im übrigen Körper, was aus der Beschaffenheit des Organes an und für sich schon resultiert. Es besteht eine gewisse Ähnlichkeit mit der Blutbildung in der Säugetierleber, wenn wir von der dort konstatierten Mächtigkeit und Dauer des Prozesses absehen wollen. Deshalb möchte ich die darauf sich beziehende Literatur hier kurz berücksichtigen.

Eine einheitliche, übereinstimmende Bearbeitung hat die Frage über die Herkunft der jungen Blutelemente und über die Dauer der Blutbildung in der embryonalen Säugetierleber nicht erfahren. Darin stimmen jedoch fast alle Autoren überein, daß die Blutzellen sich nicht aus dem Parenchym ableiten. Nur Janosik glaubt, daß Leberzellen durch Wucherung junge rote Blutkörperchen liefern können.

Es wird eine Blutzellenbildung angenommen:

a) intravaskulär
   I. Durch den Blutstrom eingeschwemmte Stammzellen liefern auf dem Wege der indirekten Teilung die fertigen Blutelemente.
   II. Die Haematopoese geschieht durch Teilung von Endothelzellen ins Gefäßlumen hinein.

b) extravaskulär
   I. Durch Teilung von Endothelzellen nach außen.
   II. Durch schon von Anfang vorhandenes indifferentes Bindegewebe.

Van der Stricht bringt die Blutzellenbildung in Zusammenhang mit der Gefäßneubildung. Er schreibt jedoch dem endothelialen Zwischengewebe primär nicht die Funktion der Haematopoese zu, sondern leitet im Gegenteil die Entstehung der Gefäßsprossung von den seßhaft gewordenen Zellen des strömenden Blutes ab. Er unterscheidet zwei Stadien der Blutbildung

während der embryonalen Entwicklungszeit. Das erste entspricht genau dem eben für das Huhn geschilderten: eine einfache geschlossene endotheliale Membran als Wand der Leberkapillaren, dem Leberparenchym dicht anliegend. Die Leber hat eine blutreifende Funktion insofern, als zu dieser Zeit jugendliche Elemente des Blutes und deren Teilungsformen in den Lebergefäßen in größerer Anzahl zu finden sind wie in dem in Umlauf befindlichen Blut der anderen embryonalen Organe. Ein Unterschied besteht nach seinen Angaben schon hier. Beim Huhn nämlich findet er unter den jugendlichen Blutzellen nur Erythroblasten, beim Säugetier aber gibt er zwei Formen von Vorstufen an. Es sind dies

1. Erythroblasten, kernhaltige rote Blutkörperchen,
2. Leukoblasten, fein granulierte, basophile, haemoglobinfreie Zellen mit rundem, selten irregulären Kern.

Im zweiten Stadium hat die Leber insofern Anteil an der Blutbildung, als an manchen Stellen das Endothel verschwindet und die jugendlichen Elemente des strömenden Blutes sich eng an das Parenchym anlegen können, sogar in Ausbuchtungen zwischen die Leberzellen zu liegen kommen; oder daß das Kapillarendothel blind endigende Sprossen in das Drüsengewebe hineintreibt, in denen sich dann die Stammzellen als Häufchen ansammeln. Das Endothel schwindet hier ebenfalls vorübergehend, später wird es aus den peripher gelegenen Stammzellen wieder gebildet.

Er verleiht also für dieses Stadium den Stammzellen des kreisenden Blutes neben der Fähigkeit, fertige Blutelemente zu bilden, auch die der Endothelbildung.

Für eine spätere Stufe der Entwicklung schildert der Autor ein zwischen dem Lebenparenchym gelegenes adenoides Gewebe als Grundlage für die Entstehung von Blutinseln, seine Herkunft ist für ihn nicht ganz sichergestellt. Er glaubt, daß dasselbe aus den Leukoblasten hervorgeht. Die Endothelbildung geht hier Hand in Hand mit der Blutzellenbildung. In beiden Fällen schreibt van der Stricht den zirkulierenden jugendlichen Blutelementen die Fähigkeit der Gefäßbildung zu, den im interparenchymatösen Gewebe gelegenen Blutzellen sowohl, als auch

den aus Leukoblasten entstandenen Elementen der Blutinseln des adenoiden Gewebes.

Fast 20 Jahre früher wie dieser Autor hat Neumann (23) auf die eigentümliche Lage der jungen Blutelemente in der embryonalen Säugetierleber hingewiesen. Sie finden sich als Inseln in Erweiterungen der Kapillaren, welche in die Leberzellen blindsackähnliche Ausbuchtungen hineintreiben. Zwischen Leberparenchym und Blutelemente ist ein endotheliales Zwischengewebe eingelagert, das nach seiner Ansicht blutbildende Funktion hat. Neumann bringt die Entstehung der jungen Blutelemente in Zusammenhang mit einer während der ganzen Dauer des embryonalen Lebens zu konstatierenden Neubildung des kapillären Gefäßsystems. Auch Kostanecki (16) nimmt für die ganze embryonale Entwicklungszeit eine intravaskuläre Blutbildung an. Übereinstimmend mit Neumann findet auch er diese in Ausbuchtungen des Lebergewebes gelegenen Blutinseln. Der Prozeß der Blutbildung ist seiner Ansicht nach abhängig von der Gefäßneubildung, und er lokalisiert sich dementsprechend ausschließlich auf das Gebiet der neugebildeten Kapillaren, die der Autor Blutbildungskapillaren nennt. Letztere sind geschlossen. Wie van der Stricht so nimmt auch er an, daß die Blutstammzellen in die Lebergefäße eingeschwemmt werden und sich erst dort weiter differenzieren, ohne daß das Gefäßendothel sich an der Blutbildung mit beteiligt. Während aber erster Autor für die roten und weißen Blutkörperchen zwei verschiedene Stammzellen anführt, die Erytroblasten und die Leukoblasten, gibt Kostanecki für beide Arten eine gemeinschaftliche Stammform an. M. B. Schmidt (25) wendet sich gegen die Anschauung, daß jugendliche Blutzellen vom Blutstrom eingeschwemmt werden und in der Leber sich dann weiter differenzieren. Er nimmt eine extra- und intravaskuläre Blutbildung an. Muttergewebe sind die Endothelien der Kapillaren. Auch er findet die in dem Lebergewebe in Form von Buchten liegenden Blutinseln. Die Stammzellen sind haemoglobinlos, ähneln Leukocyten und liefern die roten Blutkörperchen. Ganz neue Gesichtspunkte gibt Saxer (24). Er bringt das Mesenchym des Septum transversum in Zusammenhang

mit der Blutbildung insofern, als frühzeitig aus diesem Gewebe sich loslösende wandernde Elemente, „primäre Wanderzellen", zwischen die wuchernden Leberzellen gelangen. Von diesen Wanderzellen nun geht die Blutbildung aus, extravaskulär und unabhängig von den sich entwickelnden Gefäßsprossen. Solche Wanderzellen gelangen aber auch, vom Blutstrom eingeschwemmt, durch die Kapillarwand in das Lebergewebe, sie teilen sich extravaskulär, bilden die schon von früheren Autoren beobachteten Blutinseln und fungieren als gemeinschaftliche Stammform für Erythrocyten und Leukocyten. Über die Bewegung dieser Blutelemente in die Gefäßräume werden keine bestimmten Anhaltspunkte gegeben. Ein Teil der neueren Arbeiten hat die Frage über den Ausgangspunkt der Blutbildung in der embryonalen Säugetierleber nicht erheblich gefördert. So wiederholen Schridde (26) und Lobenhoffer (17) im großen und ganzen die Darlegung Neumanns und M. B. Schmidts. Schridde findet erst in späteren Stadien bei einem menschlichen Embryo von 12,5 und 13 mm Länge extravaskulär gelegene Blutbildungsinseln, deren Entstehung er mit dem Gefäßendothel in Zusammenhang bringt. Die Stammzellen der Erythrocyten- und Granulocytenreihe sind seiner Ansicht nach nicht identisch. Sie stammen von Endothelien, den gemeinsamen Mutterzellen der extravaskulären Myeloblasten, Erythroblasten und Riesenzellen. Die ganze embryonale Epoche teilt er in zwei Abschnitte, im ersten Abschnitt findet er nur intravaskuläre Blutbildung, der zweite beginnt mit der eben erwähnten extravaskulären Blutbildung bei Embryonen von 12,5 mm Länge.

Nägeli und Wain verlegen den Prozeß der Leukopoese in das perivaskuläre Gewebe. Die Bildungszellen der Gefäßanlagen liefern nach ihrer Ansicht Endothelzellen und rote Blutkörperchen, letztere liegen ausschließlich intrakapillär. In neuester Zeit hat Maximow (18) in seinen Untersuchungen über Blut und Bindegewebe auch die Hämatopoese in der embryonalen Säugetierleber beschrieben. Als Untersuchungsmaterial dienten ihm Embryonen des Kaninchens, der Katze, Ratte und Maus. Seine Angaben decken sich, was die Erythropoese anlangt, hauptsächlich mit den Saxerschen Anschauungen. Vor dem zwölften

Tag der Entwicklung bemerkt der Autor beim Kaninchen noch keine Blutbildungsherde. Das Mesenchym des Septum transversum ist das grundlegende Gewebe für die Blutbildung. Die wachsenden Leberzellenstränge schieben sich in kompakten Gruppen in die Maschen des Septum hinein, teilweise finden sie sich aber auch in Häufchen von nur zwei oder drei Zellen oder sogar einzeln von den übrigen abgetrennt und isoliert im lockeren Mesenchym liegend. Es entstehen so, entsprechend dem Wachstum der Drüsenschläuche, schmälere oder breitere Mesenchymstreifen, in welche zugleich auch die präexistierenden Leberkapillaren hohle Sprossen hineingreifen. Das Mesenchymgewebe ist kleinzellig, die Ausläufer bilden ein dichtes Netz, in dem sich häufig kleine Zellen mit hellem Protoplasma und dunklem unregelmäßigen Kern finden. Nach der Ansicht Maximows entstehen diese Elemente — er nennt sie Wanderzellen — aus dem indifferenten Mesenchym. Sie bilden die Vorstufen seiner „großen Lymphocyten". Bei den durch das weitere Wachstum des Lebergewebes bedingten Verschiebungen des Drüsenparenchyms und der Gefäße finden sich die ursprünglich durch Protoplasmafortsätze untereinander verbundenen Mesenchymzellen einzeln zerstreut zwischen Endothel und Lebergewebe, daneben auch die oben erwähnten Wanderzellen. Der Blutbildungsprozeß beginnt in den mehr zentral gelegenen Partien, wo der eben beschriebene Zustand — Lebergewebe, Mesenchym und Endothel — schon hergestellt ist. In den peripheren Partien des Organs wuchern die Leberzellenstränge und Gefäßsprossen weiter, und hier behält das Mesenchym dementsprechend noch seinen indifferenten Charakter bei. Die zwischen Endothel und Leberzellen liegenden kleinen mesenchymatischen Elemente verwandeln sich ebenfalls zu Wanderzellen und diese durch Vergrößerung des Protoplasmas und des Kerns zu den großen Lymphocyten. Letztere produzieren nun durch „differenzierende Wucherung" die Zellen der Erythrocytenstammreihe, Megaloblasten, Normoblasten und Erythroblasten. Daß diese Blutelemente an Ort und Stelle sich entwickeln, steht für den Autor ohne allen Zweifel fest. Die Lymphocyten liefern auch die Riesenzellen und die gekörnten Leukocyten. Ueber die Art

des Austretens der Blutelemente in die Gefäßlumina spricht sich der Autor unbestimmt aus. Das Gefäßsystem hat sich seiner Ansicht nach in Form von hohlen Sprossen mit geschlossener Endothelwand entwickelt. Diese wachsen von den präexistierenden Leberkapillaren aus in das Mesenchym hinein. Er findet nun die Blutstammzellen und ihre Differenzierungsprodukte nicht nur extra-, sondern auch intravaskulär und nimmt an, daß sie durch aufgelockertes Endothel in die Gefäßlumina gelangen. Es ist für ihn aber auch sichergestellt, daß vom Blutstrom eingeschwemmte Lymphocyten und primitive Erythroblasten sich in den Leberkapillaren anhäufen — wahrscheinlich wegen verlangsamter Strömung — und dort weiterentwickeln (siehe die Ansichten van der Strichts). Dieser Prozeß tritt allerdings in den Hintergrund. Maximow gibt auch die Möglichkeit zu, daß Lymphocyten aus dem Gefäßlumen durch das aufgelockerte Endothel in das perivaskuläre Gewebe auswandern können.

Neue Gesichtspunkte, besonders über das Verhältnis von Retikulum zu Endothelien, finden wir in einer Arbeit von S. Mollier (20) vertreten. Zur Untersuchung kamen Embryonen der verschiedensten Säugetiergattungen. Nach Angabe dieses Autors erstreckt sich die Blutbildung über die ganze embryonale Epoche. Grundlage für die Hämatopoese bildet ein offenes jugendliches Mesenchymgewebe, dessen Zellen kurze protoplasmatische Ausläufer haben. Dieses Material wird vom visceralen Blatt des Mesoderms gebildet — er nennt es Retikulum — und differenziert sich zu Endothelien, Blutzellen und Stützgewebe. Zwischen Peritoneum und Retikulum besteht ein enger Zusammenhang. Wir begegnen hier zum erstenmal der Ansicht, daß die Gefäßanlagen fast ausnahmslos offene retikuläre Wand besitzen, die unvermittelt in das anliegende mesenchymatische Gewebe übergeht. Durch die durchbrochene Wand dieser blutbildenden Gefäßanlagen gelangen die Blutelemente in die Gefäßlichtung. Der Autor schreibt über das Lagerungsverhältnis von Lebergewebe und Retikulum: „Das Leberzellenbalkennetz, zentrifugal auswachsend, dringt mit sich gabelnden Sprossen in das Retikulum ein und erhält dadurch an seiner

Oberfläche einen dicht anliegenden Überzug desselben. Dieser Überzug ist aber wieder nichts anderes als die retikuläre Kapillarwand, von der wir eben gesprochen haben.“ An manchen Stellen grenzt die Gefäßlichtung direkt an diesen eng anliegenden mesenchymatischen Überzug des Lebergewebes und solche Stellen täuschen geschlossene Kapillarwände vor. Mollier bringt nun verschiedene Schnitte zur Darstellung, in denen anscheinend geschlossenes Endothel mit anliegenden Blutinseln unvermittelt in ein offenes retikuläres Gewebe übergeht. Es ist so die schon von früheren Autoren beobachtete eigentümliche Lage der Blutzellen in verständlicher Weise geklärt und in einen Zusammenhang mit dem Muttergewebe gebracht. Der Prozeß der Erythropoese ist in der embryonalen Säugetierleber vorherrschend. Die Elemente des indifferenten Retikulums liefern die Stammzellen — er nennt sie Hämogonien — die auf dem Wege ihrer Umgestaltung eine Veränderung in dem Sinne erfahren, daß die starke Basophilie des Protoplasmas immer mehr abnimmt und der ursprünglich helle Kern entsprechend der weiteren Differenzierung sich immer dunkler färbt. Diese Beobachtungen stimmen mit den Angaben anderer Autoren überein. Das Leberbindegewebe ist während der Embryonalzeit zugleich auch der Ausgangspunkt für eine Leukopoese, bei der als gemeinsame Stammzelle wiederum dieselbe „Hämogonie“ wie bei der Erythropoese mit allen ihren morphologischen Charakteristika funktioniert.

Die vielseitige Bearbeitung dieses wichtigen Kapitels der Hämatologie hat die verschiedensten Gegensätze in der Auffassung über die Beschaffenheit der Gefäßwände, über die Art des Muttergewebes, über die Lage der jungen Blutzellen und über deren Stammbaum gezeitigt; nicht anders verhält es sich natürlich mit der Frage der Nomenklatur. Alle diese Punkte sind in den einschlägigen Arbeiten einer zusammenfassenden Kritik unterzogen.

Wichtig ist auf Grund neuer einwandfreier Beobachtungen die Tatsache, daß das Leberbindegewebe bei den Säugetieren fast während der ganzen embryonalen Zeit eine differenzierende Tätigkeit entfaltet und so das Muttergewebe für die roten und

weißen Blutelemente bildet. Diese zwei Zellenstämme werden hier ohne strenge topographische Trennung nebeneinander entwickelt. Der hämatopoetische Prozeß gewinnt rasch an Mächtigkeit und übernimmt frühzeitig die Funktionen des ersten Blutbildungsorgans, des Dottersacks, der dann verödet. Van der Stricht und Bizzozeros Beobachtungen über intravaskuläre blutreifende Funktionen der embryonalen Vogelleber treten im Vergleich mit den eben angeführten Prozessen bei den Säugetieren vollkommen in den Hintergrund. Welche Organe übernehmen nun hier die Blutbildung? Nach den neuesten Forschungsergebnissen ist es das Knochenmark, das spät, erst in der zweiten Hälfte der Bebrütungszeit eine hämatopoetische Tätigkeit entfaltet und gegen Ende der embryonalen Epoche den Dottersack, der bis dahin als hauptsächliches Blutbildungsorgan funktionierte, endgültig ablöst (Dantschakoff [7, 9]).

Bei den Vögeln ist nach übereinstimmenden Beobachtungen die Bildung der hämoglobinhaltigen und hämoglobinlosen Zellen im Gegensatz zu den oben konstatierten Befunden streng topographisch in intravaskuläre und extravaskuläre Gebiete geschieden.

Die embryonale Leber des Huhns bietet, auf eine blutbildende Funktion hin betrachtet bis ungefähr zur Mitte des siebenten Bebrütungstages nichts Bemerkenswertes. Es wäre zwar durch das Vorhandensein von retikulärem Gewebe frühzeitig die Bedingung für eine Entwicklung von Blutelementen gegeben, doch wird dieses zweifellos vorerst zur lokalen Gefäßbildung verwendet, ohne irgendwelche Modifikationen in hämatopoetischer Richtung hin zu erfahren, wie wir es für die embryonale Säugetierleber schon in frühesten Stadien bewiesen finden. Die Fragen über die erste Anlage der Vogelleber liegen außerhalb des Bereiches meiner Untersuchungen. Es würde mich zu weit führen, über die hierin im Grunde stark auseinandergehenden Ansichten der Autoren eingehender zu referieren, und ich verweise deshalb auf eine neuere Arbeit von W. Hildebrandt (14), der wohlgesichtete und erschöpfende Literaturangaben zugrunde liegen. Die mit der Entstehung

und dem weiteren Wachstum des Organs zusammenhängende Entwicklung der Blutgefäße fand in den oben angeführten Abhandlungen großenteils keine Erwähnung. Nur einige Autoren streifen gelegentlich dieses Thema. So vertritt Choronshitzki (5) den Standpunkt, daß der Sinus venosus in Form von Ausbuchtungen, bedingt durch die Art des Wachstums des Organs, die einzige Grundlage für die Gefäßbildung in der Leber ist. Er glaubt, daß durch die schlauch- und balkenförmigen Verzweigungen der Sinus venosus gewissermaßen zerteilt und entsprechend der Vergrößerung immer mehr aufgelöst wird. Für die peripheren Gefäße gibt er allerdings die Möglichkeit einer aktiven Tätigkeit des Auswachsens zu. Frobeen (13) gibt an, daß gleichzeitig mit der Ausbildung des Leberbalkennetzes die umschlossene Vene Sprossen in die Lücken oder Maschen des Netzes treibt, und daß daraus die späteren Gefäße entstehen. Er bringt das mikroskopische Bild einer Hühnerleber (Alter des Embryo 96 Stunden) in starker Vergrößerung, und wir sehen da Lebergewebe und Endothel in innigem Zusammenhang ohne retikuläres Zwischengewebe. Das Gefäßendothel ist ohne allen Zweifel geschlossen. Auch van der Stricht (27) findet in der embryonalen Hühnerleber von Anfang an geschlossenes dem Drüsengewebe unvermittelt anliegendes Kapillarendothel. Es tritt in der Tat die Ausbildung des retikulären Gewebes während des ersten Drittels des embryonalen Lebens stark in den Hintergrund, so daß man bei Betrachtung mit schwachen Systemen wenigstens für die zentralen Partien der Leber die eben angeführten Befunde van der Stricht u. a. bestätigen möchte. Und doch finden wir bei genauerem Studium häufig auch hier frühzeitig am Ende des vierten, Anfang des fünften Bebrütungstages besonders zwischen dem Endothel der größeren Gefäße und dem anliegenden Drüsenparenchym ein ziemlich weitmaschiges Bindegewebe, das mit den Zellen der Kapillaren durch Fortsätze verbunden auf das Lebergewebe übergeht. Die Gefäßwände sind um diese Zeit geschlossen. Mollier (20) hat bei Vogelembryonen ungefähr der gleichen Entwicklungsdauer auf dieses „spärliche zellige Retikulum“ hingewiesen.

Es bedürfte auf Grund dieser Angaben noch eingehender Untersuchungen, wie sich die Vogelleber von ihrer ersten Entwicklung an zu dem sie umgebenden Mesenchym verhält, ob tatsächlich die präexistierenden Kapillaren des Sinus venosus allein die Gefäßbildung übernehmen, oder ob nicht auch das Bindegewebe damit in Zusammenhang zu bringen ist.

Wir sehen bei Embryonen der oben angeführten Bebrütungsdauer an der Peripherie des Organs zwischen die Leberschläuche eingelagertes lockeres Mesenchym, das nur spärlich vaskularisiert ist. Die Leberbalken wachsen dem Bindegewebe entgegen. Die anliegenden Kapillaren mit ihren geschlossenen Wandungen setzen sich nicht unmittelbar ins angrenzende Mesenchym fort, sodaß man ihren Elementen hier eine aktive unabhängige Tätigkeit zuschreiben könnte, indem sie dann in Form hohler Sprossen dort eindringen. Der Uebergang ist im Gegenteil ein allmählicher. Das Endothel beginnt mit der Annäherung an die Peripherie sich aufzulockern und dem Charakter des oben erwähnten indifferenten zwischen Endothel und Epithel liegenden Gewebes zu nähern, das morphologisch identisch ist mit dem angrenzenden lockeren Mesenchym. Es beteiligt sich so letzteres an der Bildung der großen Kapillarräume in der Leber und liefert die Elemente, welche als Ueberzug der Leberschläuche wohl auf Grund physikalischer Gesetze, bedingt durch die starke Vergrößerung des Organs und dessen Wachstumsrichtung, dann auch als Wandung der unter Druck stehenden Bluträume ihre ursprüngliche indifferente Form ändern und sich abplatten. Zwischen Endothelien und Lebergewebe bleiben Partien des jugendlichen Mesenchyms, die wir auch in den zentralen Gebieten finden, wo ein direkter Zusammenhang mit dem peripheren Bindegewebe in oben beschriebener Form längst aufgehoben ist. Wie verhält sich nun das Peritoneum zum angrenzenden Bindegewebe und zum wachsenden Organ?

Ich möchte von vornherein betonen, daß der ganzen morphologischen Beschaffenheit und auch der Funktion nach die peritonealen Deckzellen sich in nichts Wesentlichem unterscheiden von den gewöhnlichen Bindegewebselementen. Um die Zeit des 5. Brütungstages, wo der bindegewebige des Anteil

Organs in der Peripherie im Vergleich mit späteren Stadien noch ein relativ großer ist, gehen die Zellen des Peritoneums unvermittelt in die des Bindegewebes über. Es ist nicht möglich, irgendeinen nennenswerten Gegensatz um diese Zeit zu finden, der innige Zusammenhang beider Gewebsarten, die übereinstimmenden Formen ihrer Teilungsfiguren, dann auch die Teilungsrichtung der Peritonalzellen sprechen nicht für eine einseitige Differenzierung, sondern für eine Mitbeteiligung an der Lieferung indifferenten Bindegewebes, der ich aber jetzt keine besondere Bedeutung beimessen möchte. Typisch für die Elemente des Mesenchyms und Peritoneums ist der große chromatinarme Kern mit einem großen Nukleolus, der ständig vorhanden ist, daneben mehrere kleine. Die Bindegewebezellen zeigen eine besonders in der Umgebung des Kerns relativ stark ausgeprägte Basophilie des Protoplasmas, die nach der Peripherie zu abnimmt und den Ausläufern ein charakteristisches blasses Aussehen gibt. Diese Basophilie erstreckt sich bei den peritonealen Deckzellen auf den ganzen Protoplasmaleib. Die zahlreichen Zellenfortsätze der mesenchymatischen Elemente verbinden sich untereinander zu einem feinen Netzwerk, in dessen Maschen das Parenchym eingelagert ist. Ich werde im Folgenden noch eingehender über die Modifikationen sprechen müssen, die unter gewissen Umständen Peritonealzellen durchmachen und dann auch die Beziehungen zum Bindegewebe wegen gemeinschaftlicher kongruierender Wachstumsäußerungen darstellen.

Dem Organ kommt um die angegebene Zeit, Ende des vierten bis Beginn des sechsten Bebrütungstages keine spezifisch hämatopoetische Funktion zu, weder dem um die Gefäße der inneren Organpartien gelagerten spärlichen Retikulum, noch dem peripheren Leberbindegewebe. Doch hat durch die in diesen Stadien allerdings selten vorkommenden Wanderzellen in ihren verschiedenen Entwicklungsstufen das Mesenchym wohl schon einen Differenzierungsmodus erfahren, der seinen Höhepunkt in der Lieferung stark basophiler Zellen als schon vom Grundgewebe freigewordener Elemente erreicht. Weiter aber schreitet der Prozeß nicht, und das ist auch verständlich, wenn wir das Organ von Embryonen des sechsten Bebrütungstages

untersuchen. Um diese Zeit verschwindet nämlich langsam das Mesenchym und mit ihm diese integrierenden Elemente. Ende des sechsten Tages zeigt sich uns das Lebergewebe schon zu beträchtlicher Größe entwickelt. Die Leberbalken liegen fast überall dem Peritoneum dicht an, letzteres präsentiert sich meist nur in einer Lage von länglichen Zellen mit hellem, chromatinarmem Kern. Das spärliche extrakapilläre Bindegewebe ist nun verschwunden und an dessen Stelle eine einfache endotheliale Wand getreten, die mit dem Drüsengewebe in innigem Zusammenhang steht. So gewinnt die Leber schon frühzeitig eine gewisse Ähnlichkeit mit dem fertigen Organ, wenn wir die Kapillarbezirke in ihrem Verhältnis zum Parenchym ins Auge fassen. Wir sehen dasselbe durchweg in Form von soliden Schläuchen angeordnet, gegen die Umgebung scharf abgegrenzt, mit einem Lumen, das schon früh, um die Mitte des vierten Bebrütungstages, deutlich zu sehen ist. Es besteht hier eine Übereinstimmung mit den früheren Stadien, was den Inhalt der Blutgefäße anlangt. Man findet hauptsächlich Erythrocyten, daneben, wenn auch selten, große Zellen mit stark basophilem ungranulierten Protoplasmaleib, nach Dantschakoffs Nomenklatur „große Lymphocyten“ und dann auch spärliche Übergangsformen, die zum Teil ihrem morphologischen Charakter nach den fertigen roten Blutkörperchen gleichen, deren Plasma aber noch hämoglobinarm ist. Bizzozero (1, 2) hat die Zellen des strömenden Blutes in der embryonalen Hühnerleber untersucht und dabei eine mit dem fortschreitenden Organwachstum Hand in Hand gehende Abnahme der Mitosen von roten Blutkörperchen konstatiert. Er leitet die Regeneration der roten Blutelemente von präexistierenden hämoglobinhaltigen Zellen ab, die auf dem Wege der indirekten Teilung sich vermehren und ersetzen. Da nach seinen Angaben, wie eingangs erwähnt, die Leber nur eine untergeordnete Rolle in der Blutbildung spielen soll, die Mitosen der Erythroblasten als Zeichen von Blutneubildung in den Leberkapillaren immer mehr abnehmen, so muß dieser Regenerationsprozeß in einem andern Organ sich abspielen, da das Knochenmark erst mit dem vierzehnten Tage die Tätigkeit einer Hämatopoese übernimmt. In Zupfpräparaten der Milz fand nun der Autor um die

Zeit des achten und neunten Tages zahlreiche Karyokinesen von Erythroblasten und folgerte daraus, daß sie vorübergehend die Bildung der Erythrocyten übernimmt. Ich kann auf Grund meiner Untersuchungen an Schnittpräparaten diese Ansicht nicht unwidersprochen lassen. Schon allein die Kleinheit des Organs würde auch bei positivem Befunde seine ausreichenden reparatorischen Funktionen in Frage stellen. Nun hat aber die Milz um die angegebene Zeit in Wirklichkeit gar keine blutbildenden Funktionen im Sinne Bizzozeros. Ich finde auch bei Durchsicht der Literatur nirgends eine Übereinstimmung mit seinen Angaben (siehe die Arbeiten von Götte, Woit, Janisik, Tonkoff usw.). Dantschakoff (7, 9) kommt ausführlich auf Bizzozeros Ansichten zu sprechen: „Der Autor sah in der Milz den vermeintlichen Herd der Blutbildung. Ich glaube nun, daß dies nur eine Folge der Auffassung des Prozesses der Blutbildung, wie sie Bizzozero sich konstruierte und der von ihm gebrauchten Untersuchungsmethodik war. Es genügte ihm, in einem Zupfpräparat der Milz mehrere Mitosen in roten Blutkörperchen zu finden, um ihr eine besondere Bedeutung in der Blutbildung beizumessen. Wenn wir aber heutzutage von einem Herd der Erythropoese verlangen, daß er besondere Jugendformen von roten Blutkörperchen enthalte, so ist es eine Leichtigkeit, an passenden Präparaten zu beweisen, daß gerade die Milz vom Hühnchen für die Erythropoese keine Bedeutung hat. Wir müssen nach einem andern Herd der Blutbildung suchen.“ Nicht anders verhält es sich nach ihren Angaben mit der Leber, auch die im Bindegewebe des Embryo zu konstatierenden Blutbildungsprozesse treten in den Hintergrund. Es findet dort allerdings eine relativ starke Erythropoese statt, die sich in Form von zahlreichen größeren und kleineren extravaskulären, im Mesenchym selbst gelegenen Blutbildungsherden geltend macht, so daß das für die Vögel sonst zu Recht bestehende Gesetz der Blutbildung in- und außerhalb der Gefäße hier nicht zutrifft. Doch hat das Auftreten dieser im Bindegewebe gelegenen Herde für den Kreislauf keine Bedeutung. Sie werden zum großen Teil vom Mesenchym und von den integrierenden Bestandteilen desselben, von Wanderzellen, phagocytiert oder verfallen der regressiven

Metamorphose. Man kann diese Stellen der früheren Blutbildungsherde im Mesenchym noch während langer Zeit an der Anwesenheit solcher Phagocyten erkennen. Die schon von van der Stricht für eine Reihe von Körperteilen angegebenen intravaskulären erythropoetischen Blutbildungsherde bestätigt Dantschakoff (8), doch reifen nach ihren Ansichten die Blutzellen nicht, sondern ihr Ausgangspunkt sind die Endothelien, die wuchern, frei werden und den morphologischen Charakter der Lymphocyten erhalten. Sie gelangen dann ins zirkulierende Blut, wo sie als Stammzellen für die Erythrocyten funktionieren. Neben dieser Tätigkeit intraembryonaler Gefäße gibt sie als Hauptblutbildungsorgan den Dottersack an.

Van der Stricht, der für die Erythrocyten basophile Vorstufen annimmt, beobachtet nun im Gegensatz zu Bizzozero in der Leber um den siebenten Bebrütungstag und auch später noch intravaskuläre Blutbildungsherde; er schreibt dem Organ oder besser den Blutelementen der Kapillaren eine gesteigerte Vermehrungsfähigkeit zu und bezeichnet es als Blutreifungsorgan, das aber keine besondere Bedeutung gewinnt. Übereinstimmend mit van der Stricht möchte ich betonen, daß mit dem fortschreitenden Wachstum der Leber das Bild sich allmählich ändert, und wir schon um die Mitte des siebenten Bebrütungstages solche intravaskuläre Herde finden, die kurze Zeit später dann massenhaft in den Gefäßlichtungen erscheinen. Es ist vor allem zu konstatieren einmal eine starke Zunahme großer stark basophiler lymphocytenähnlicher Zellen, die ich zunächst als Stammzellen bezeichnen möchte und basophiler Vorstufen der roten Blutkörperchen, dann aber auch eine gesteigerte Teilungsfähigkeit von hämoglobinhaltigen Elementen. Ich habe es vermieden, aus dem Inhalt der Leberblutgefäße einen Schluß auf die Funktionen des Organs zu ziehen oder zwischen den Blutkörperchen selbst einen Zusammenhang zu konstruieren. Diese Elemente befinden sich einmal im strömenden Blute, und wir müssen die große Wahrscheinlichkeit einer Einschwemmung im Auge behalten, die Entstehung ihrer Vorstufen in das eigentliche Blutbildungsorgan den Dottersack verlegen oder aber den Endothelien der Lebergefäße eine blutbildende Tätigkeit zu-

erkennen. Die intravaskulären erythropoetischen Herde verschwinden langsam ungefähr um die Mitte des neunten Bebrütungstages. Wie verhalten sich nun die Endothelien und peritonealen Deckzellen des Organs, sind sie mit diesen intravaskulären Erscheinungen in Zusammenhang zu bringen, ändert das Organ sein bisheriges Aussehen?

Wir haben gesehen, daß die Leber sich ihrem fertigen Zustande mehr und mehr nähert und das Mesenchym auf Grund der Organvergrößerung rasch verschwunden ist. Die Ausbildung von Fibrillen aus dem Protoplasma der Endothelien hat am Ende des sechsten Tages bereits eine beträchtliche Ausdehnung erfahren. Wir können sie schon mit gewöhnlichen Färbungsmitteln, Hämalaun-Eosin, Dominici, deutlich darstellen. Hand in Hand mit diesen Veränderungen der Gefäßwandzellen gehen auch solche der peritonealen Elemente. Es ändert sich nun nach ganz kurzer Zeit zu Beginn des siebenten Bebrütungstages das Bild insofern, als in der Peripherie des Organs eine ziemlich starke Entwicklung von jugendlichem lockeren Bindegewebe zu konstatieren ist. Die Lieferung dieses indifferenten Materials gewinnt am Ende des siebenten, Beginn des achten Bebrütungstages an Ausdehnung, und wir finden auch an verschiedenen Stellen der zentralen Partien solche Bindegewebsgruppen. Mit diesen Prozessen stehen nun die oben erwähnten intravaskulären Blutbildungsherde in zeitlichem Zusammenhang. Ich werde später darauf eingehender zu sprechen kommen. Woher stammt nun dieses retikuläre Gewebe? Es sind die Peritonealzellen und Endothelien, die sich durch eine starke Differenzierungstätigkeit auszeichnen und dessen Lieferung übernehmen.

Dieses neugebildete Mesenchym ist weitmaschig und hat zunächst den indifferenten Charakter des für die Stadien des vierten und fünften Tages beschriebenen perivaskulären und peripheren Leberbindegewebes. Der verhältnismäßig große, blasse chromatinarme Kern steht in einem gewissen Gegensatz zu dem besonders in den zentralen Partien dunklen basophilen Protoplasma. Die Chromatinstränge sind äußerst zart und nur an Stellen, wo sie sich zu Knoten verdichten, deutlich zu sehen.

Von ihnen heben sich die relativ großen Kernkörperchen, die einzeln oder auch zu mehreren dort vorkommen, charakteristisch ab. Die Färbbarkeit des meist rundlichen Kerns und auch des Protoplasmas ist einem ständigen Wechsel unterworfen. Wir sehen Retikulumzellen mit einem relativ dunklen chromatinreichen Kern in schwach basophilem Protoplasma und umgekehrt, ein Befund, der wohl von Färbung und Fixierung unabhängig ist, da sich diese Differenzen an einem und demselben Präparat konstatieren lassen. Es sind aber auch die Größenverhältnisse von Zelleib und Kern keine konstanten. Dies trifft für die fixen retikulären Elemente in gleichem Maße zu wie für deren Differenzierungsprodukte, die kurze Zeit später das Maschenwerk ausfüllen.

Die Kapillaren haben nun großenteils keine ausgesprochenen Wandungen mehr, sie sind durch retikuläres Gewebe ersetzt. Es ist dadurch eine offene Kommunikation zwischen Bindegewebe und Bluträumen hergestellt, ein Befund, der den für die embryonale Säugetierleber von Mollier beschriebenen Verhältnissen entspricht. Hier erstreckt sich die Ausbildung des retikulären Gewebes auf das ganze Organ und fast über die ganze embryonale Epoche, während beim Huhn ein Teil der Gefäßbezirke seine geschlossenen Wandungen beibehält und der oben angedeutete Differenzierungsprozeß am Ende der ersten Hälfte der Entwicklungszeit beginnt, nur kurze Zeit dauert, um dann in der zweiten Hälfte*) etwas modifiziert wieder einzusetzen. Das neugebildete Retikulum hat mit den unveränderten Gefäßwandzellen, wie wir sie in den zentralen Partien finden, die faserige Differenzierung des Protoplasmas gemeinsam.

Wir finden die verschiedensten Formen in den Begrenzungszellen der Gefäßräume, rein retikuläres Gewebe, Übergänge von endothelialen Elementen zu Mesenchymzellen, dann auch in den zentralen Teilen Kapillarbezirke mit geschlossenen

*) Diese Arbeit wird durch Tafelfiguren ergänzt und mit einem Hinweis auf die Funktionszustände der Leber in der zweiten Hälfte der Bebrütungszeit später in einer Zeitschrift veröffentlicht werden.

Wandungen ohne retikuläres Zwischengewebe. Wenn nun an vielen Stellen die Endothelien sich auflockern, ihren Zellcharakter verlieren und zu Bindegewebselementen werden, wie kann es uns da wundern, wenn um dieselbe Zeit die Wandungselemente der Gefäße auch noch eine andere Differenzierungsrichtung einschlagen. Sie haben die Fähigkeit, sich in große Zellen mit stark basophilem Protoplasmaleib zu verwandeln, die den früher schon beschriebenen intravaskulären als Stammzellen bezeichneten Elementen vollkommen gleichen. Die Umwandlung von Endothelien zu Stammzellen geht langsam vor sich, und wir können diesen Prozeß zu Beginn der ersten Lieferung von neuem Leberbindegewebe überall im ganzen Organ beobachten, auch an Stellen, wo der geschlossene endotheliale Charakter der Kapillaren bleibt. Mit einer zunehmenden Basophilie und Vergrößerung des Protoplasmas ändert sich auch der Kern in entsprechender Weise, ohne daß vorerst die Zellen den morphologischen Habitus eines Endothels verloren hätten. Mit der weiterschreitenden Differenzierung wölben sie sich ins Gefäßlumen vor, um ihren endothelialen Charakter dann endgültig zu verlieren. Sie haben die morphologischen und chemischen Eigenschaften von Stammzellen bekommen, funktionieren aber noch als Wandungselemente — ihre breite Basis steht in fester Verbindung mit den anliegenden unveränderten Endothelien. Sie vermehren sich lebhaft durch indirekte Teilung und runden sich dabei immer ab, werden kleiner, wobei das Protoplasma etwas an Basophilie einbüßt und homogen wird. Diese ins Gefäßlumen vorgewölbten Elemente vom Charakter typischer Blutstammzellen gelangen nun selbstverständlich durch Ablösung ins strömende Blut, wo uns eine Weiterverfolgung ihrer Differenzierungsrichtung aus bereits angeführten Gründen nicht möglich erscheint.

Die Endothelien haben nun als Zellen mit spezifisch faseriger Differenzierung ihres Protoplasmas die Fähigkeit zur Abrundung in Stammzellen des Blutes, noch mehr, sie liefern Bindegewebe, das seinerseits wiederum den Ausgangspunkt für eine wirksame Hämatopoese bildet. Dies berechtigt uns zu der Annahme, daß nicht spezifische Elemente es sind, die

Stammzellen produzieren und wieder andere, die nur als Fibroblasten funktionieren.

An Stellen, wo das Bindegewebe von Bluträumen durch typische Endothelien abgegrenzt ist, sehen wir auf Grund von geeigneten Anschnittsbildern, daß durch langsame Ausarbeitung Stammzellen entstehen nicht ins Lumen der Gefäße hinein, sondern nach außen ins Retikulum. Wir finden diese Elemente dann in einer oder mehreren Lagen im Mesenchym, unverändertem Endothel anliegend, von den Bluträumen durch letztere getrennt. Diese Umwandlung geht ebenfalls langsam und ganz in derselben Weise vor sich, wie wir es eben für die intravaskuläre Differenzierungsrichtung beschrieben haben; es sind Zellen mit plattem langgestreckten Protoplasmaleib und länglich-ovalem Kern, durch Ausläufer mit den Nachbarzellen verbunden, ihrer Gestalt nach richtige Endothelien, sie haben aber tinktoriell die charakteristischen Eigenschaften von Stammzellen. Daneben finden wir dann auch die schon isolierten abgerundeten Mutterformen selbst. Dieser Polymorphismus von Endothelien tritt also in der embryonalen Vogelleber an einem und demselben Organ in oben beschriebener Form zutage. Die Endothelien haben die Fähigkeit, Bindegewebe zu liefern, sie differenzieren sich aber auch zu Blutstammzellen, die dann wiederum intra- und extravaskulär sich weiter entwickeln. Ich bin in der Literaturübersicht auf die Frage der hämatologischen Terminologie nicht näher eingegangen. Neuere Arbeiten geben auf Grund eingehender embryonaler und vergleichend histologischer Untersuchungen über die Entstehung der Blutzellen klare Begriffe. Die dort vertretene rein unitarische Anschauung, welche in der aus indifferentem Gewebe freigewordenen, stark basophilen Zelle die gemeinsame Mutterform der roten und weißen Blutkörperchen sieht, ist wohl unwiderlegbar und die notwendige Folge wird auch die Vereinfachung der Frage der Nomenklatur sein. Ich habe es vorgezogen, für diese stark basophilen Elemente, die beim Vogel von Anfang an übereinstimmende Eigenschaften als Stammformen für die Reihe der roten und weißen Blutkörperchen besitzen, den einfachen Namen Stammzellen anzuwenden. Es gilt diese Bezeichnung,

wie gesagt nur für die undifferenzierten Mutterzellen, die von den Hämatologen als „große Lymphocyten", „lymphoide Hämoblasten", „Hämogonien" usw. bezeichnet werden. — Das neuentstandene retikuläre Gewebe bildet nun um die angeführte Zeit die Begrenzung der Bluträume, umgibt die Leberzellbalken und ist in der Peripherie in innigem Zusammenhang mit den peritonealen Deckzellen. In ihm finden wir ebenfalls die stark basophilen Stammformen der Blutkörperchen. Sie differenzieren sich langsam aus den blassen Retikulumzellen. Die bei Z.-F.-D. besonders stark ins Auge fallende Basophilie ihres Protoplasmas ermöglicht schon mit schwacher Vergrößerung leicht eine Unterscheidung von den gewöhnlichen Bindegewebselementen und drüsigen Partien. Seine amöboiden Eigenschaften geben den Zellen immer wieder ein anderes Aussehen und sind auch die Ursache der stets wechselnden Kernformen. Trotzdem behalten diese Elemente auf Grund ihrer übereinstimmenden chemischen Eigenschaften ein unverkennbares typisches Aussehen. Die ruhenden Formen zeigen in dem schollig bis feinretikulär angeordneten Protoplasma, das leicht vakuolisiert ist, einen großen runden, etwas exzentrisch gelegenen Kern, in dem die Chromatinteilchen nur spärlich vorhanden sind. Es ist dadurch sein helles Aussehen bedingt, daß sich in einen starken Gegensatz zu dem dunklen basophilen Zelleib stellt. Wir finden manchmal nach E.-A.- und D.-Färbung auf der dem breiten Protoplasmateile zugekehrten Seite eine leichte Einbuchtung des Kerns, die durch die in diesem befindliche rötliche Sphäre bedingt erscheint. Die Färbbarkeit der Nukleolarsubstanz ist bei den verschiedenen Methoden eine verschiedene, immer aber steht sie im Gegensatz zu den sie umgebenden Chromatinteilchen. Wir finden meist einen großen kolbigen Nukleolus, der manchmal mit der Kernmembran in Zusammenhang zu stehen scheint und eine leichte Einziehung desselben bedingt. Dann sehen wir auch Stammzellen, deren Kern ein oder zwei große rundliche Kernkörperchen zeigt, daneben mehrere kleine. Der Wechsel ihrer Zahl und Gestalt ist wohl in Zusammenhang mit dem jeweiligen Funktionszustand der Zellen zu bringen, der auch durch das ständig wechselnde Größenverhältnis von

Plasma zu Kern einen Ausdruck findet. Die Stammzellen vermehren sich durch Karyokinese. Ihre Teilungsformen stimmen mit den obenerwähnten Mitosen der aus Endothelien differenzierten Mutterzellen natürlich vollkommen überein. Die bei Z.-F. immer zu konstatierende ziemlich starke Verdickung der Chromosomen führte ich auf die Art der Fixierung zurück und kontrollierte deshalb mit indifferenten Fällungsmitteln. Es besteht jedoch nur ein ganz geringer Unterschied, wie wir an den entsprechenden Abbildungen erkennen können.

Die Stammzellen des extravaskulären Retikulums differenzieren sich nun hauptsächlich in einer Richtung. Es sind die Zellen der Erythrocytenreihe, die wir häufig in den Maschen des Bindegewebes liegend finden, Erythroblasten und die verschiedenen Übergänge von diesen zu fertigen Erythrocyten. Die Erythroblasten heben sich ebenfalls deutlich von dem blassen retikulären Gewebe ab. Sie unterscheiden sich morphologisch und chemisch von ihren Mutterzellen, sind kleiner wie diese und ohne Pseudopodien, doch hat das Protoplasma noch in ziemlich hohem Maße die Fähigkeit der passiven Gestaltveränderung. Man erkennt dies an Zellen, die zwischen enge Maschenräume des retikulären Grundgewebes zu liegen kommen. Die ruhenden Formen dieser Tochterzellen — ich ziehe hier zum Vergleich die um diese Zeit häufig in den Bluträumen vorkommenden übereinstimmenden Elemente herbei — haben in Schnittpräparaten ebenfalls typische Konturen. Für die noch stark basophilen, den Mutterzellen am nächsten stehenden Formen finde ich übereinstimmend mit Dantschakoff (7, 9) am häufigsten die ovale bis runde Form. Solche Generationen haben den retikulären Bau und die Vakuolen, wie sie die Stammzellen in ihrem Protoplasma aufweisen, verloren. Es wird homogen und weniger basophil. Auch die Kerne zeigen geringe Veränderungen, die bedingt sind durch eine Abnahme des Volumens, deutlichere Zeichnung des Chromatinnetzes und Reduzierung der Nukleolarsubstanz. Dantschakoff hat bei Erythroblasten und auch Stammzellen, den „großen Lymphocyten“ ihrer Nomenklatur, Linsenform beobachtet. Es bestätigten sich mir diese Angaben für die rein basophilen, den Mutterzellen am nächsten stehenden Ele-

mente. Die Stammformen des extravaskulären Leberbindegewebes haben zu dieser Zeit auch die Fähigkeit zur Weiterentwicklung in der Richtung der weißen Blutkörperchen und zwar speziell der acidophilen Granulocyten. Ihr Differenzierungsweg ist um diese Zeit ein einseitiger im Gegensatz zu späteren Stadien, wie wir sehen werden. Sie nehmen ihren Ausgang von denselben basophilen Elementen, die mit den Mutterformen der roten Blutkörperchen identisch sind. Trotz ausgiebiger Einlagerung von runden Granula mit spezifischem Färbevermögen haben solche relativ schon junge Generationen noch das charakteristische Aussehen der Stammzellen, was Konturen, Tingierbarkeit des Plasmas und auch Beschaffenheit des Kernes anlangt (wir finden um diese Zeit acidophile Granulocyten intravaskulär, auch ältere Formen mit noch deutlichem Stammzellencharakter). Ihr Entwicklungsgang ist so langsamer und einfacher wie bei der Erythrocytenreihe, der Zusammenhang mit den Stammformen durch ihre Beschaffenheit selbst gegeben. Nun sehen wir nie acidophile Granulocyten, deren Plasma Linsenform zeigt. Ich habe gefunden, daß dadurch immer einer spezifischen Veränderung der Stammzellen in die Richtung der Erythrocyten Ausdruck gegeben ist. Kern und Plasma haben wohl noch die ursprünglichen chemischen Eigenschaften beibehalten, die Konturen der Zelle sind aber andere, sie hat sich dadurch von ihrer Stammform entfernt und ist Erythroblast geworden. Nach Dantschakoff spielt sich die Erythropoese in den eigentlichen blutbildenden Organen, Dottersack und Knochenmark nur intravaskulär ab, und ihre Angaben beziehen sich, glaube ich, nur auf diese Gebiete. In der Leber aber treffen die Prozesse der Erythro- und Leukopoese im Bindegewebe zusammen, und deshalb halte ich es für wichtig, auf diese schon differenzierte Zellform und deren Zusammenhang mit den eigentlichen Mutterzellen hinzuweisen. Die Erythroblasten machen nun auf dem Wege ihrer Umgestaltung zu fertigen Erythrocyten eine Reihe von ganz typischen Veränderungen durch. Der Kern wird mit der weiteren Differenzierung und der Entfernung von der Mutterzelle kleiner und dunkler, letzteres wohl hauptsächlich auf Grund der Anreicherung an Chromatin-

teilchen. Diese bilden ein scharfgezeichnetes Netz, in dessen Maschenwerk die Knotenpunkte verdickt erscheinen. Bei den älteren, schon weiter differenzierten Zellformen ist von Nukleolarsubstanz nichts mehr zu sehen. Auf Grund einer fortschreitenden Abnahme von Basophilie des Protoplasmas und einer entsprechenden Ausarbeitung von Hämoglobin können die einzelnen Erythroblastenformen voneinander geschieden werden. Wir bekommen dann die Übergänge von Blau in Violett und endlich in das Rosa der reiferen Elemente. Mitosen dieser gemischtfarbigen Zellen sind häufig. Ihre Zellkonturen werden dann rund und sie unterscheiden sich abgesehen von der Plasmafärbung und kleineren Form von den Mutterzellen auch durch feinere und kürzere Chromosomen. Neben ihnen finden wir im extravaskulären Leberbindegewebe auch fertige Erythrocyten, die sich auf Grund ihres starken Hämoglobingehaltes, der größeren Zellform und des deutlich sichtbaren Randreifen von den Vorstufen sicher unterscheiden lassen. Die Konturen sind oval, im Profil erscheinen sie als langgestreckte, flache bikonvexe Linsen. Das Protoplasma der reiferen Erythroblasten und das der Erythrocyten erscheint homogen. Die einzelnen Entwicklungsphasen von älteren Erythroblastenformen, die auf Grund ihrer Protoplasmatinktion unschwer zu erkennen sind und die als kleinste Zellen mit noch schwach basophiler Quote die eigentlichen Übergangszellen bilden, zu fertigen Erythrocyten festzuhalten und mit Sicherheit zu entscheiden, ob es sich bei den wieder an Volumen und nun auch an Hämoglobingehalt stark zunehmenden Zellen nicht schon um fertige rote Blutkörperchen handelt, ist mir nicht möglich geworden. Über die in diesen Stadien hauptsächlich intravaskulär vorkommenden Thrombocyten und deren Abstammung werde ich später berichten. Zu Beginn des neunten Bebrütungstages verschwindet das Leberbindegewebe rasch und mit ihm diese Blutbildungsprozesse. Wir finden noch kurze Zeit intravaskulär große Herde von Stammzellen, Erythroblasten und Thrombocyten, die wohl als letzte Produkte der extravaskulären Hämatopoese aufzufassen sind.

Die dualistische Anschauung, wie sie Bizzozero, Denys

und van der Stricht hauptsächlich auf der Tatsache einer strengen topographischen Trennung von Erythro- und Leukopoese basierend vertreten, ist auf Grund eingehender Untersuchungen Dantschakoffs auch für die Vögel als nicht zutreffend verlassen worden.

Nach diesem Autor (7) hat in frühesten Stadien der Bebrütung das Gefäßnetz der Area vasculosa, später das venöse Kapillarsystem in der Dottersackwand blutbildende Funktionen. Die Erythropoese steht nun in keinem Zusammenhang mit den extravaskulären Elementen der Substanzinseln. Es unterscheiden sich dieselben in nichts von den intravaskulären Stammzellen, sie sind identisch mit ihnen und entwickeln sich aus den außerhalb der Gefäße liegen gebliebenen Blutinseln, zum Teil sind es aus den Gefäßen emigrierte oder sekundär aus Endothelien entstandene Mutterzellen, die sich aber nur in der Richtung der weißen Blutkörperchen weiter differenzieren. Ich finde nun in den Aufzeichnungen Dantschakoffs keine Angaben, auf Grund deren den extravaskulär entstehenden Lymphocyten die Funktion einer indirekten Erythropoese zukäme insofern, als sie durch Immigration durch die Wandungen der Gefäße ins Lumen der Kapillaren hinein so sekundär an ihren eigentlichen Bestimmungsort unter den einzig günstigen Bedingungen in der Richtung der Erythropoese sich entwickeln würden. Im Dottersack ist also die Leuko- und Erythropoese streng topographisch geschieden und letztere auch vollkommen unabhängig von den extravaskulären Gebieten. Dies ist nun, glaube ich, auch der einzige wichtige Unterschied, der nach den Beobachtungen des Autors zwischen der Blutbildung im Dottersack und der im Knochenmark besteht. Hier beteiligen sich die extravaskulär gebildeten Stammzellen an der intravaskulären Erythropoese, indem sie durch die bloßen Wandungen in die Gewebe permigrieren, um dort als Urformen der roten Blutkörperchen zu funktionieren. In der Leber aber sehen wir den Prozeß der Erythro- und Leukopoese nebeneinander hergehen. Dantschakoff hat wohl für das Bindegewebe des Embryo auch eine extravaskuläre Erythropoese beschrieben; sie verliert aber vollkommen ihre Bedeutung dadurch, daß diese Zellen alle ent-

weder phagocytiert werden oder auf dem Wege der regressiven Metamorphose zugrunde gehen. Wie in jedem blutbildenden Gewebe so finden wir auch in der Leber zahlreiche Phagocyten, die eosinophile Leukocyten, rote Blutkörperchen usw. zerstören, auch einzelne Zellformen, die sich auf dem Wege regressiver Metamorphose befinden, doch der größte Teil der neugebildeten Zellen gelangt ins strömende Blut. Wir wissen, daß Peritoneum und geschlossene Endothelien ein blutbildendes indifferentes retikuläres Gewebe liefern, das mit den Bluträumen zum Teil in offener Verbindung steht. Dadurch allein sind schon ganz andere Bedingungen für die Entwicklung und Weiterbeförderung der Blutelemente gegeben. Dann beteiligen sich auch die Endothelien selbst nach zwei Richtungen an dieser Blutbildung, einmal ins Lumen der Gefäße und dann auch ins Bindegewebe hinein. Es ist uns des weiteren bekannt, daß um die fragliche Zeit die scharfen Gegensätze zwischen Endothelien und Bindegewebszellen aufgehoben sind; ebensowenig tritt auch das Peritoneum als Gewebsart sui generis auf. Es liefert Bindegewebe und hat sogar die Fähigkeit, sich in loco in Stammzellen zu verwandeln (siehe die betreffenden Abbildungen), die auf dem Wege durch die Maschen des Retikulums sich weiter zu den Elementen der Erythrocytenreihe differenzieren können. Dann sprechen auch die zahlreichen Permigrationsbilder und das zeitliche Zusammentreffen der intravaskulären Blutbildungsherde mit der Bindegewebslieferung und dessen Differenzierungstätigkeit für eine wirksame extravaskuläre Erythropoese.

Herrn Professor Dr. Mollier bin ich für die liebenswürdige Überlassung eines Arbeitsplatzes und für das mir stets erwiesene freundliche Entgegenkommen zu ergebenstem Dank verpflichtet.

Literaturverzeichnis.

1. Bizzozero, Formation des corpuscules sanguins rouges. Arch. Ital. de Biologie, T. IV, 1883.
2. — Neue Untersuchungen über den Bau des Knochenmarks bei den Vögeln. Arch. f. mikr. Anat. 1890, Bd. 35.
3. — et Torre, De l'origine des corpuscules sanguins dans les differents classes des vertebrés. Arch. Ital. de Biologie 1883, T. IV.
4. — Über die Entstehung der roten Blutkörperchen bei den verschiedenen Wirbeltierklassen. Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Medizin 1884, Bd. 65.
5. Choronshitzky, Die Entstehung der Milz, Leber usw. Anat. Hefte, 13. Bd., 42. u. 43. Heft, 1900.
6. Dantschakoff, Über das erste Auftreten der Blutelemente im Hühnerembryo. Folia hämatologica, 4. Jahrg., Suppl. Nr. 2, 1907.
7. — Untersuchungen über die Entwicklung des Blutes und Bindegewebes bei den Vögeln. Anat. Hefte, 37. Bd., Heft 3, 1908.
8. — Untersuchungen über die Entwicklung von Blut und Bindegewebe bei Vögeln. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 73, 1909.
9. — Über die Entwicklung des Knochenmarks bei den Vögeln usw. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 74, 1909.
10. Dehler, Beitrag zur Kenntnis des feineren Baues der roten Blutkörperchen beim Hühnerembryo. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 46, 1895.
11. Denys, Sur la structure de la moelle des os et la genèse du sang chez les oiseaux. La Cellule, T. IV.
12. Disse, Die Entstehung des Blutes und der ersten Gefäße im Hühnerei. Arch. f. mikr. Anat. 1879, Bd. 16.
13. Frobeen, Zur Entwicklung der Vogelleber. Anat. Hefte, Bd. 1, 3. Heft, 1892.
14. Hildebrandt, Die erste Leberentwicklung beim Vogel. Anat. Hefte, 20. Bd., 1902.
15. Janosik, Le développement des globules sanguins chez les amniotes. Bibliographie anatomique, 7. X. 1902.
16. Kostanecki, Die embryonale Leber in ihrer Beziehung zur Blutbildung. Anat. Hefte, Bd. 3.

17. Lobenhoffer, Über extravaskuläre Erythropoese in der Leber unter pathologischen und normalen Verhältnissen. Zieglers Beiträge für pathol. Anat. u. allgem. Pathologie, Bd. 43, 1908.
18. Maximow, Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 1. Die frühesten Entwicklungsstadien der Blut- und Bindegewebszellen usw. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 73, 1909
19. — Untersuchungen über Blut und Bindegewebe. 2. Über die Histiogenese der Thymus bei Säugetieren. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 74, 1909.
20. Mollier, Die Blutbildung in der embryonalen Leber des Menschen und der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 74, 1909.
21. Müller, Deutsches Archiv für klin. Medizin, Bd. 48.
22. Nägeli, Blutuntersuchungen und Blutdiagnostik. Leipzig 1908.
23. Neumann, Neue Beiträge zur Kenntnis der Blutbildung. Arch. f. Heilkunde, Bd. 15, 1874.
24. Saxer, Über die Entwicklung und den Bau der normalen Lymphdrüsen usw. Anat. Hefte, Bd. 75.
25. Schmidt, Über Blutzellenbildung in Leber und Milz usw. Zieglers Beiträge, Bd. 11, 1892.
26. Schridde, Über die Myeloblasten und Lymphoblasten. Verhandlungen des Kongresses für innere Medizin, 23. Vers., München 1906.
27. Van der Stricht, Le développement du sang dans le foie embryonaire. Archives de Biologie, T. XI.
28. — Nouvelles recherches de la genèse des globules rouges etc. Archives de Biologie, T. XII.
29. Wain, Über die Bildung der roten und weißen Blutzellen in der embryonalen menschlichen Leber. Inaug.-Diss., Zürich 1906.

Lebenslauf.

Ich, Robert Haff, Sohn eines Kommerzienrats, geboren 8. November 1884 in Pfronten (Bayern), trat nach vierjährigem Volksschulbesuch dortselbst in das Gymnasium zu Kempten im Jahre 1894 ein und absolvierte dasselbe 1903. Ich widmete mich dann dem Studium der Medizin; meine ersten vier Semester verbrachte ich an der medizinischen Fakultät zu München, eines in Erlangen, eines in Kiel und vier in München. Nach abgelegtem Staatsexamen 1909 unterzog ich mich der Doktorprüfung im Frühjahr 1910.

Druck von C. Schulze & Co., G. m. b. H., Gräfenhainichen.